

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：32710

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09645

研究課題名(和文) 軟組織疾患の予防・治癒促進に寄与するカルシウムイオン徐放性歯科材料の開発

研究課題名(英文) Development of Calcium Ion Sustained Release Dental Materials Contributing to the Prevention and Healing of Soft Tissue Diseases

研究代表者

広田 一男(Hirota, Kazuo)

鶴見大学・歯学部・非常勤講師

研究者番号：60563848

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ラットの上顎1番臼歯の歯根部に絹糸を巻くことによって惹起させた歯周病モデルにおいて、歯周パッキング材としてガラスイオノマーセメント(GIC)を用いた場合はコンポジットレジンや無処置の場合に比較してポケット深さ及び歯肉炎症症状を改善させた。この事はポケット深さの改善にGICから放出される金属イオンが寄与した可能性を示唆した。上皮細胞の接着因子であるカドヘリンの結合はCaイオンによることが知られているが、歯周ポケットにおいても材料から放出される金属イオンによってその結合が改善される可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、少子高齢化の傾向が一層顕著になり高齢者の割合が増加し、健康問題を抱える高齢者の増加も社会保障問題や国民の負担と絡めて社会問題となっている。高齢者の心身の健康維持には食事の摂取が欠かせず、歯の保存は高齢者の健康増進の要素の一つである。高齢者の歯の喪失は齲蝕よりも歯周病によることが多い。歯肉上皮の細胞間接着にはカドヘリンが関与しその細胞間接着はCaイオンによることが公知である。本研究は歯質接着性の歯周パッキング材に徐放性Caを配合する事により歯周ポケットの改善を達成した。このことは歯周病の新規な治療手段を提供する学術的意義があると同時に、高齢者が健康寿命を伸ばす社会的意義は極めて大きい。

研究成果の概要(英文)：We used an 8-week-old male wistar rat as a model for periodontal disease. We made experimental periodontitis by using silk ligatures tied around root surface of the first maxilla molar. We left silk threads for 2 weeks there to induce periodontal pockets. After we removed out silk threads, lingual side of the periodontal area was packed with Glass ionomer cement (GIC), Composite resin (CR) or without treatment for 1 week. The pocket depth was improved when GIC was used as a periodontal packing material compared to when CR was used or when no treatment was performed. The gingiva surface packed with GIC, we did not find gingivitis. By EPMA, the gingiva surface packed with GIC contains Ca ion. These results shows that the pocket depth improvement may be attributed to Ca released from GIC. The binding of cadherin, an adhesion factor for epithelial cells, is known to be due to calcium. It is suggested that Ca ions released from materials may also improve the binding of an epithelial cells.

研究分野：歯科材料

キーワード：歯周病 カルシウム グラスイオノマーセメント カドヘリン 歯周ポケット EPMA

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会の進展とともに健康な高齢者の割合を増加させ、健康寿命を可能な限り延伸させることは生きがいの醸成、社会保障制度の持続など広範な観点から社会的意義が大きい。歯科領域では治療または予防による歯の保存を達成し、食物を噛める状態を維持することが栄養の摂取からも健康寿命及び平均寿命を延伸する大きな要因であることは広く知られている。高齢者の歯の喪失に焦点をあてると齶蝕に起因するよりも歯周病に起因することが多い。

一方、グラスアイオノマーセメント(GIC)を大臼歯歯根分岐部に充填した場合、充填部に接触している歯肉粘膜の状態が、他の充填材料と比較して、良好に保たれているという知見を多くの臨床家が指摘している。別の観点から、体内の細胞の接着を考えてみると、細胞接着因子のカドヘリンはCaイオンが結合に関与していることは公知である。この二つの所見から、GICが接触している粘膜が良好なのは「元来GICに含まれているカルシウムなどのアルカリ土類金属イオンが、Caイオン依存性の細胞接着因子カドヘリンの機能を促進している」からではないかと推測した。つまり、徐放性フッ化物がう蝕を抑制している事と同様に、歯科材料から適切な量のCaイオンなどの金属イオンを徐放することができれば、軟組織炎症の発症予防・治癒促進に貢献するのではないかと着想した。

体内のカルシウムは小腸から吸収され骨内に蓄えられるとともに必要な組織へ供給され、余剰なカルシウムは腎臓から排出されている。カルシウムがこの回路以外から供給される可能性を検討することは興味あるところであった。

2. 研究の目的

多くの歯牙硬組織代替材料の中で、隣接する軟組織の疾患予防・治癒促進に寄与する製品は存在しない。本研究は、歯科材料研究・開発において必須である、軟組織に対する安全性評価から一歩先に進み、軟組織の疾患予防・治癒促進寄与を評価することを目的とした。本研究により、Caイオン等の金属イオンにより軟組織炎症の発症予防・治癒促進効果が確認され、その作用機序の解明が進めば、口腔粘膜と接触する多くの歯科材料への展開が可能になり、口腔保健推進に歯科材料が一層貢献できることになる。

3. 研究の方法

本研究は主にラットを用いた歯周病モデルによって評価した。

(1) 材料

本研究で用いられた材料はGICとコンポジットレジン(CR)である。GICは作製したカルシウムフルオロアルミノシリケートガラス粉末と市販のポリアクリル酸水溶液(GC社Fujilix液)からなり、紛液比3.3g/1.0gで練和して実験に使用した。CRはUDMA(ウレタンジメタクリレート)70重量%、TEGDMA(トリエチレングリコールジメタクリレート)30重量%を混合してモノマー組成とした。ストロンチウムシリケートガラス粉末をフィラーにして、フィラーを70重量%、モノマー組成を30重量%の割合で十分混合し、光重合開始剤を加えCRを作製した。CRを歯に接着する際には歯面を十分水洗、乾燥した後、CR用ボンディング材(GC社プレミオボンド)で処理し歯質に接着させた。

(2) Caイオンの徐放性確認

Caイオンの徐放性はCaイオン電極によって測定した。作製したフルオロアルミノシリケートガラス粉末と市販のポリアクリル酸水溶液を紛液比3.3g/1.0gの割合で練和し、直径13.5mm、厚さ2.3mmのステンレス製の型に埋入した。硬化後型から取り出し、37℃湿度100%の状態で1時間放置したのち、100ccの37℃蒸留水中に浸漬し硬化24時間後に徐放されたCa濃度を測定した。浸漬する容器にはポリプロピレン製の三角フラスコを用いた。測定は東亜ディーケーケー社製MM-43Xイオン濃度計にCaイオン電極を用いて測定した。測定は1日後に引き続き3日後、7日後に行った。なお、蒸留水は1日ごとに取り換えた。

(3) ラットの歯周病モデル

8週齢のウイスター系雄のラットを用いて、上顎1番の歯根部に3-0号のネスコスーチャー絹製縫合糸(アルフラッサファーマ社)を2週間巻いたところ骨吸収を起こしたことを確認した。同時に歯周ポケットの形成が観察された。また歯肉は歯肉炎症状を起こしていた。

(4) 材料の適応

10週齢になったラットの絹糸を取り除き直ちに材料を歯周パックのように適応歯の舌側に歯周ポケットを覆った。材料を適応する前には歯質を純水で十分洗浄し乾燥させた。GICは紛液比3.3g/1.0gの割合で練和し歯面に塗布した。CRの場合は前述のように光硬化ボンディング材を歯面に適応した後CRを塗布し20秒間光照射し硬化させた。材料の適応期間は1週間とした。症例数は各5症例であった。

(5) 実験系

実験系は3種類とした。a GICでパックした系、b CRをCR用ボンディング材でパックした系、c 無処置の系の3種類であった。

(6) 歯周ポケットの測定

糸巻前、材料適応直前、材料を適応した後の1週間後にポケット深さを測定した。なお、歯周ポケットの測定には自作した探針を用いて行った。

(7) 軟組織のカルシウム分布の測定

軟組織のカルシウム分布の測定にはEPMAを用いた。

a 試料準備：まずラットの歯牙及び周囲の軟組織を10%中性緩衝ホルマリン溶液に固定した。

固定後通常の操作によりエタノール置換を行った。すなわち徐々にエタノール濃度を上げていき。ゼオライトで水分を完全に除去した無水 100%エタノールまで置換した。その後 MMA レジン(Osteo-bed Bone Embedding Resin Kit, シグマ・アルドリッチ社) で濃度を徐々に置き換えた。最終的に同 MMA レジンを 55 で硬化させ包埋した。包埋後、ダイヤモンドカッターで頬舌方向に歯面に垂直に切断した。切断切片の厚みは 0.8 mm とした。切断後、試料を SiC 耐水研磨紙(丸本ストラウス社)で 600 番から 1500 番まで研磨した。その後ラッピングフィルム # 8000(1 μ m、3M 社)まで研磨した。研磨後カーボン蒸着を行った。

EPMA 分析：EPMA は日本電子社製 JXA-8900RL を用いて面分析で行った。加速電圧は 20 KV で操作した。

4. 研究成果

(1) Ca イオン徐放量

GIC からの Ca イオン徐放量は 1 日後 11.6 \pm 1.8 (μ g/cm²/day)、3 日後 5.2 \pm 1.0 (μ g/cm²/day)、7 日後 1.9 \pm 0.3 (μ g/cm²/day) であった。結果を図示すると下記の図 1 のようになる。

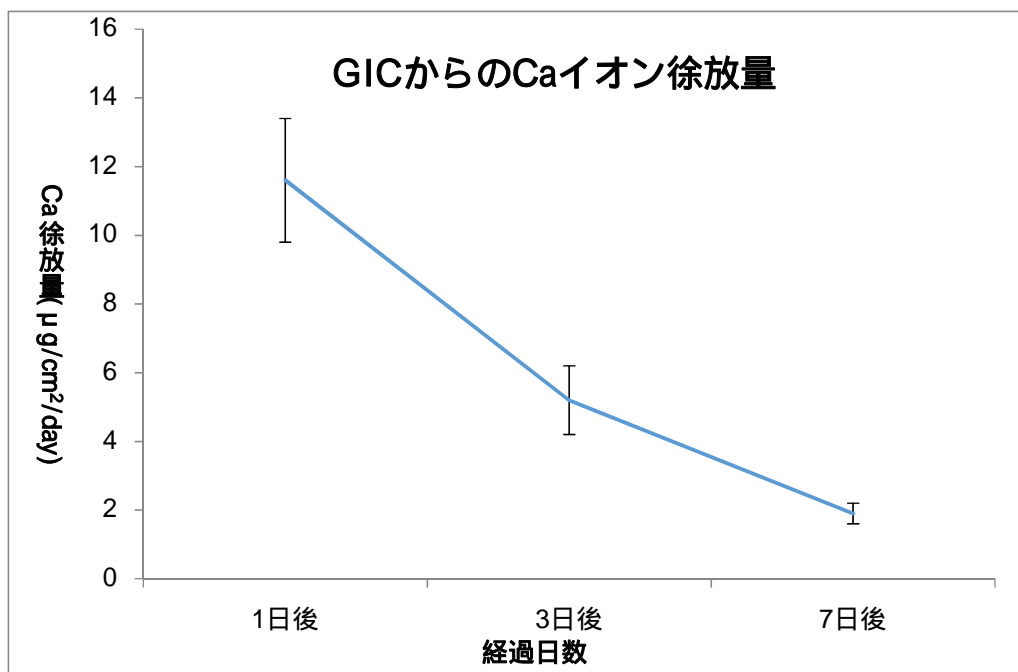


図 1 GIC からの Ca イオン徐放量

Ca イオン徐放量は 1 日後では多いが徐々に微量にはなる。GIC からはフッ素が 1 年以上長期間にわたり徐放することは公知であるが、Ca イオンも同様に極微量ではあるが長期にわたり徐放するものと考えられる。

(2) ポケット深さの測定と歯肉炎症状の観察

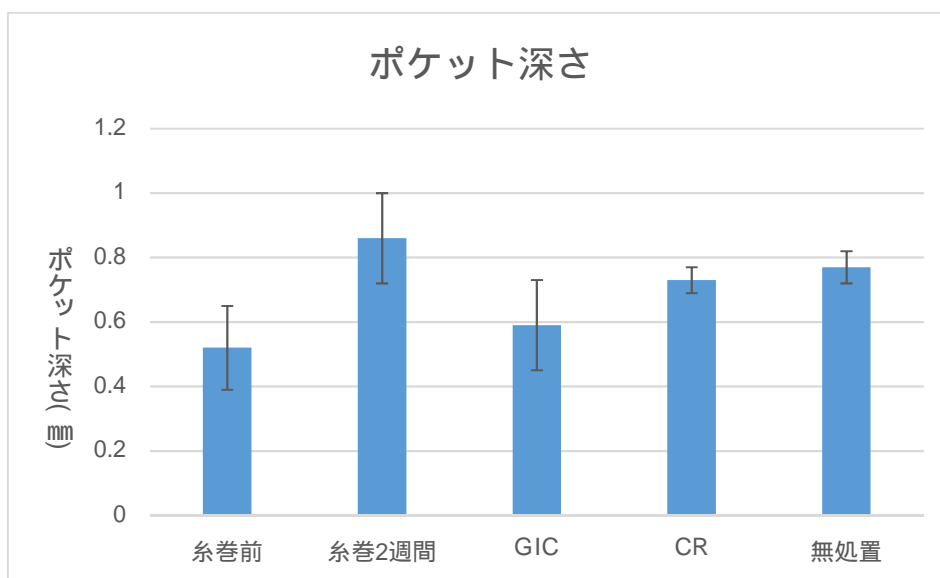


図 2 各種状態のポケット深さ

ラットのポケット深さは糸巻き前 0.52 ± 0.13 mm、糸巻き 2 週間後 0.86 ± 0.14 mm、GIC 適応 1 週間後 0.59 ± 0.14 mm、CR 適応 1 週間後 0.73 ± 0.04 mm、無処置 1 週間後 0.77 ± 0.05 mm であった。

これらの結果は図 2 のようになった。糸巻き 2 週間後ではポケットの形成がみられ、また歯肉炎の症状を呈していた。しかしながら、GIC を 1 週間適応した場合、ポケット深さは改善され、歯肉炎も消失していた。

この結果から GIC は絹糸を巻く前の正常な状態に近づき歯周ポケットの回復に貢献するものと考えられた。一方、CR 及び無処置の場合には糸巻後のポケット深さから僅かな改善に留まっていた。以上よりラットを用いた動物実験からは歯周ポケット形成時には GIC でパックする方法の有効性が示唆された。

(3) カルシウム分布

軟組織表面のカルシウムの分布を典型的な 2 例で示す。EPMA による面分析により、GIC 近傍の口腔粘膜表面の Ca 濃度は CR 近傍の口腔粘膜表面に比較して、Ca の濃度分布が高かった。このことは GIC から徐放された Ca イオンが軟組織表面から内部に拡散したのと考えられた。

ラット 1

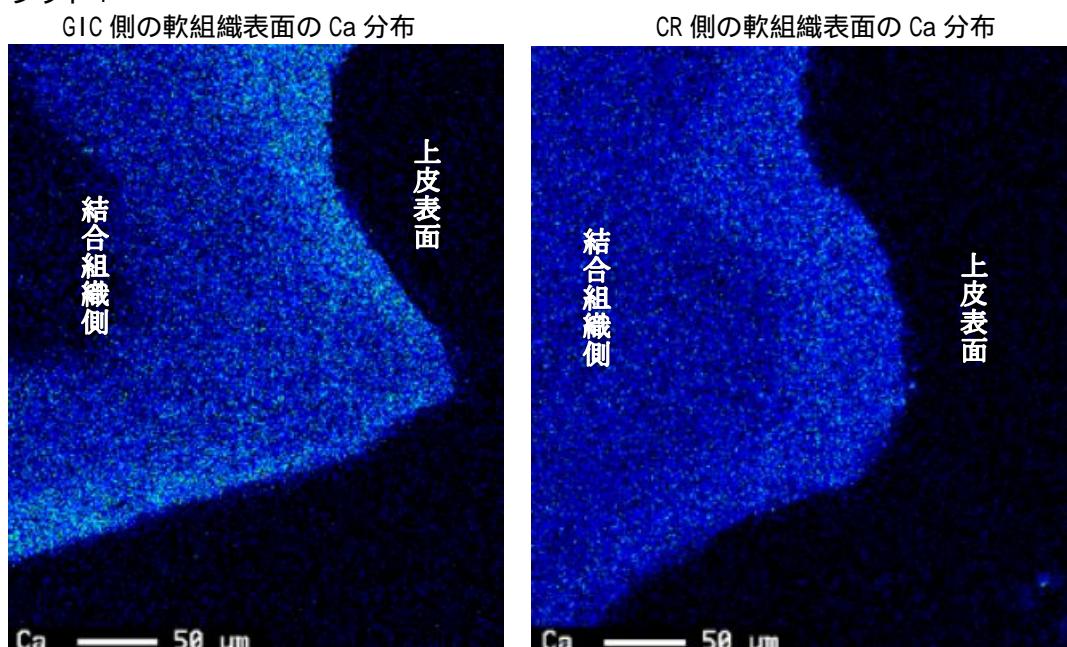


図 3 軟組織の Ca 分布測定例 1

GIC に隣接した粘膜には CR 側よりも多くの Ca が確認された。

ラット 2

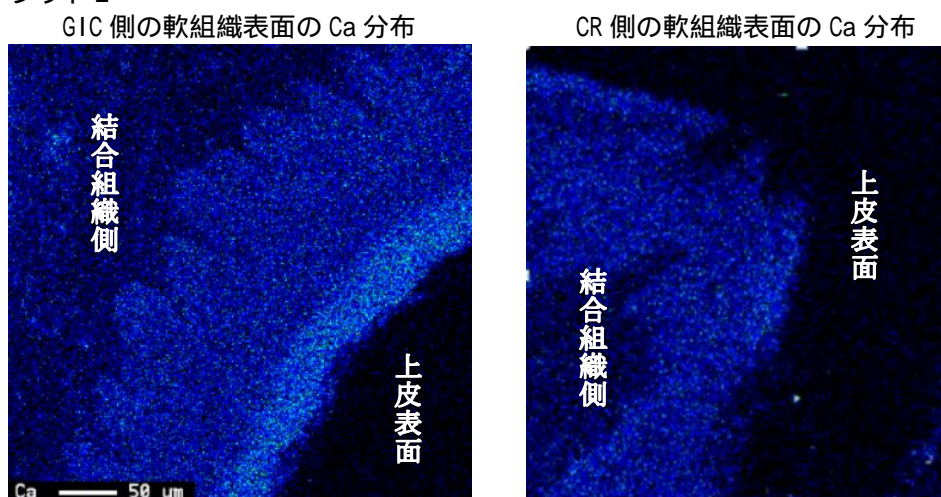


図 4 軟組織の Ca 分布測定例 2

この例でも GIC に隣接していた上皮表面には Ca の分布が比較の CR 側よりも明瞭にみられた。

また前述したように GIC はポケット深さの改善を達成していることと絡めて考えると、軟組織に取り込まれた Ca がポケット深さ改善に寄与している可能性を示唆している。このことは軟組織表面の細胞接着因子であるカドヘリンの結合は Ca イオンに影響されることと矛盾がなく、GIC から徐放された Ca イオンがカドヘリンの細胞接着に好影響を与えている可能性があり、その結果としてポケット深さの改善に寄与したと考えられる。この詳細なメカニズムの検討が必要ではあるが、Ca が生体内から供給されるばかりでなく材料からの取り込みの可能性を示唆しており、今後の歯科材料への広範な応用検討が期待される。

成果のまとめ

GIC からは Ca イオンが徐放されていることを確認した。

歯周パック材として GIC を使用した場合は歯周ポケット深さ及び歯肉炎症状の改善がされた。一方、CR または無処置の場合はポケット深さの改善はわずかであった。

歯周パック材として GIC を使用した場合、材料に隣接した軟組織には Ca イオンが確認された。

本研究の結果から、将来、歯周パック材による歯周病治療の可能性を示唆している。

今後は組織学的な検討、及び最適濃度の測定などを通して有効性の詳細なメカニズムの解明を行っていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kazuo Hirota, Takatoshi Murata, Yoshinori Nameta, Ayako Okada, Nobuhiro Hanada
2. 発表標題 The Periodontal Pocket Depth Packed With Glass Ionomer Cement
3. 学会等名 IADR 学会（国際学会）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	村田 貴俊 (Murata Takatoshi) (10313529)	鶴見大学・歯学部・講師 (32710)	
研究分担者	岡田 彩子 (Okada Ayako) (60515584)	鶴見大学・歯学部・助教 (32710)	
研究分担者	花田 信弘 (Hanada Nobuhiro) (70180916)	鶴見大学・歯学部・教授 (32710)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	行田 克則 (Nameta Yoshinori)	日本大学・歯学部・臨床教授 (32665)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------